

Zárójelentés

Projekt azonosító: KH 129511

Projekt címe: A reaktív nitrogénformák szerepének jellemzése a ZnO nanopartikulumok által okozott fitotoxicitásban

Támogatási időszak: 2018. szeptember 1.-2021. február 28. (6 hónap hosszabbítással)

A pályázat során megtörtént a cink-oxid nanopartikulumok (ZnO NP) szintézise két méretben, és ezek részletes jellemzését is elvégeztük. Kvázi gömb alakú nano-ZnO részecskéket állítottunk elő ~8 nm és ~45 nm-es méretben. A részecskeméretet, alakot, kémiai összetételt és a kristályosságot transzmissziós elektronmikroszkópiával, elektron diffrakciós mintázatok elemzésével, röntgensugár diffrakcióval és UV spektrofotometriával jellemeztük.

Kezelési szuszpenziókat készítettünk a ZnO NP desztillált vízben való oldásával, melyek jelenlétében csíráztattuk a *Brassica napus* L. (cv. GK Gabriella) és a *Brassica juncea* L. (cv. Negro Caballo) magokat. Pilot kísérletekben kiválasztottunk egy serkentő (25 mg/L) és egy gátló (100 mg/L) koncentrációt mindkét méretű nanorészecske esetén.

Az első pályázati évben a kisebb méretű, a második évben pedig a nagyobb méretű ZnO részecskékkel dolgoztunk. Megállapítottuk, hogy a *B. juncea* nagyobb fokú toleranciát mutat a kisméretű (~8 nm) nano-ZnO-dal szemben, mint a *B. napus*. Továbbá, a nano-ZnO toxikusabb, mint a Zn ionos formája. A *B. juncea* jobb gyökérhajtás transzlokációt mutat ZnO kezelés esetén, ami hozzájárulhat a jobb tűréséhez. Csakúgy, mint az antioxidáns rendszer (szuperoxid-dizmutáz, aszkorbát-peroxidáz, aszkorbát, glutation) nagyobb fokú nano-ZnO-indukált aktiválódása a *B. juncea* szerveiben. A nano-ZnO kezelés megváltoztatja (bár különböző mértékben) a reaktív molekulák szintjeit mindkét fajban, ami erősödő fehérje nitrációhoz vezet. Az eltérő nitrációs mintázat arra utal, hogy a két fajban feltehetőleg eltérő a nitrált fehérjék típusa, ami összefüggésben lehet a ZnO NP tűréssel illetve érzékenységgel.

A ~45 nm méretű ZnO NP-ok esetén megállapítottuk, hogy a *B. napus* nagyobb fokú toleranciát mutat a nano-ZnO-dal szemben, mint a *B. juncea*. Ez egy érdekes különbségnek adódott az előző kísérleti rendszerhez képest, és a növényfajok tűrésének nanorészecske méret függésére utal. Tehát a növények válasza a nano-ZnO jelenlétére fajfüggő, és függ a nanorészecske méretétől is.

A kisebb NP dózis sejtfalmódosulásokat (lignifikáció, pektin felhalmozás, lignin-szuberin berakódás, sejtfali peroxidázok aktiválódása) eredményez a relatíve tűrő *B. napus* gyökérzetében, ami hozzájárulhat a Zn ion sejtfalban való megkötéséhez, így a tapasztalt, változatlan citoplazmikus Zn ion szinthez a gyökérben. A 100 mg/L ZnO NP gyökérrövidülést okozó hatása összefüggésbe hozható a kallóz berakódásával (így feltehetőleg a plazmodezmás anyagtranszport gátlásával) mindkét fajban. A 100 mg/L ZnO NP kezelés esetén tapasztalt peroxidáz aktiválódás hozzájárulhat a quercetin szint növekedéséhez a *B. juncea* gyökerekben. További eredményeink arra utalnak, hogy a *B. juncea* gyökerek súlyos ZnO-indukált károsodást szenvednek el, mivel a szuperoxid gyökanion, hidrogén-peroxid, hidrogén-szulfid, nitrogén-monoxid, peroxinitrit és S-nitrozoglutation szintek növekednek a magas ZnO dózis hatására, ami a nitro-oxidatív jelátvitel intenzifikálódására utal. Ezzel szemben a jobb tűrőképességű *B. napus*-ban a reaktív oxigénforma (ROF) jelátvitel fokozódik, de a reaktív nitrogénforma (RNF) jelátvitel nem aktiválódik a ZnO NP jelenlétében.

A kisméretű NP terhelés hatására a RNF képződése és ennek következtében a fehérje nitráció a tűrőképességüktől függetlenül mindkét fajban fokozódik, míg a nagyobb részecskeméretű ZnO NP kezelés csak az érzékeny fajban okoz RNF-produkciót és fehérje nitráció fokozódást. Ez arra utal, hogy a ZnO NP-ok a méretük függvényében váltanak ki nitrozatív folyamatokat a növényekben. Feltehetőleg a kisebb méretű nanorészecskék fokozottabb stresszt jelentenek a növényeknek, amire a nitrozatív jelátvitel fokozódása is utal. A nagyobb méretű nano-ZnO csak az érzékeny növényfajban okozott RNF képződést és fehérje nitrációt, ami feltételezi, hogy a ZnO NP tolerancia a nitrozatív jelátvitellel függ össze.

A projekt legfőbb, új eredményei: elsőként mutattuk ki, hogy a ZnO NP-ok a növényekben felborítják a RNF homeosztázist, fehérje nitrációt fokoznak, vagyis az oxidatív stresszel egyidejűleg nitrozatív stresszt okoznak. Ez a másodlagos stressz a kisebb részecskeméretű/toxikusabb ZnO NP terhelés esetén a tűrőképességtől függetlenül mindkét fajban megjelenik, míg nagyobb ZnO NP részecskeméret esetén összefüggést mutat a tűrőképességgel.

Közlés: A Chemosphere című folyóiratban (IF2019: 5,778) megjelentettünk egy kutatási cikket a kisméretű (~8 nm) ZnO NP-ok nitro-oxidatív jelátvitelt okozó hatásáról a két Brassica fajban (Molnár, Árpád; Papp, Márk; Kovács, Dávid Zoltán; Bélteky,

Péter; Oláh, Dóra; Feigl, Gábor; Szöllősi, Réka; Rázga, Zsolt; Ördög, Attila; Erdei, László et al. Nitro-oxidative signalling induced by chemically synthesized zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) in Brassica species CHEMOSPHERE 251 Paper: 126419). Megjelenttünk továbbá egy kutatási cikket az Ecotoxicology and Environmental Safety című folyóiratban (IF2019: 4,872), melynek témája a nagyobb méretű (~45 nm) ZnO NP-ok ROF/RNF jelátvitelt és sejtfal összetételt befolyásoló hatása (Molnár, Árpád ; Rónavári, Andrea; Bélteky, Péter ; Szöllősi, Réka; Valyon, Emil; Oláh, Dóra; Rázga, Zsolt; Ördög, Attila; Kónya, Zoltán; Kolbert, Zsuzsanna (2020) ZnO nanoparticles induce cell wall remodeling and modify ROS/RNS signalling in root of Brassica seedlings. ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY 206 Paper: 111158 , 12 p.). További két összefoglaló cikket készítettünk a témában. Az egyiket a Journal of Experimental Botany folyóiratban (IF2019: 5,908) jelentettük meg: Kolbert, Zsuzsanna; Szöllősi, Réka; Feigl, Gábor; Kónya, Zoltán; Rónavári, Andrea (2021) Nitric oxide (NO) signalling in plant nanobiology: current status and perspectives. JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY 72:928-940. A másik összefoglaló a Plants című folyóiratban (IF2019: 2,762) jelent meg: Szöllősi, Réka; Molnár, Árpád; Selahattin, Kondak; Kolbert, Zsuzsanna (2020) Dual effect of nanomaterials on germination and seedling growth: stimulation vs. phytotoxicity. PLANTS 9(12), 1745. További review cikket jelentettünk meg a Nitric Oxide folyóiratban és az Antioxidants folyóiratban, valamint egy szerkesztői cikk (editorial) és egy könyvfejezet is készült. A projekt eredményeihez kapcsolódóan született publikációk összes impakt faktora (2019-es IF értékekkel számolva): 27,645.

A hazai (MNBT 13. Kongresszusa) és a nemzetközi konferencia (ASPB Plant Biology 2020) nem került megrendezésre a pandémia miatt. Ezek helyett a „14th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants” elnevezésű konferencián vettünk részt Münchenben 2019-ben, valamint a Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusán, Szegeden, szintén 2019-ben. Ezekkel a konferenciákkal összefüggésben két absztrakt készült.